

EP317453

Publication Title:

Medicinal compositions based on flavonoids and saponins extracted from chrysanthellum, process for their manufacture and therapeutical uses

Abstract:

The active principle of these medicinal compositions consists essentially of a combination of flavonoids and saponins extracted from Chrysanthellum. There are six of these flavonoids, chosen from the flavonoids 7-glucosylisookanin, 7-glucosyleryodictyol, 7- glucosylluteolin, marein, maritimein and apigenin, and caffeic chlorogenic and isochlorogenic acids. The process for their manufacture consists in subjecting a plant, chosen from Chrysanthellum species termed americanum and its variety procumbens and Chrysanthellum indicum, subspecies afro-americanum, to a grinding treatment followed by an extraction with a polar solvent, and then in subjecting the extracts obtained to a maximum of two washes using a non-polar solvent. They possess activity in the treatment of cystine lithiasis, arteritis and venous insufficiency of the lower limbs.

Data supplied from the esp@cenet database - <http://ep.espacenet.com>

THIS PAGE BLANK (USPTO)

⑫

DEMANDE DE BREVET EUROPEEN

⑲ Numéro de dépôt: **88420384.5**

⑤① Int. Cl.4: **A 61 K 35/78**

⑳ Date de dépôt: **16.11.88**

③① Priorité: **19.11.87 FR 8716668**

④③ Date de publication de la demande:
24.05.89 Bulletin 89/21

⑥④ Etats contractants désignés:
AT BE CH DE ES FR GB GR IT LI LU NL SE

⑦① Demandeur: **IPHYM SA Société Anonyme dite :**
Chemin de la Seraine
F-01700 Beynost (FR)

⑦② Inventeur: **Guillot, Bernard**
30 Chemin de la Fouillouse
F-69570 Dardilly (FR)

⑦④ Mandataire: **Maureau, Philippe et al**
Cabinet GERMAIN & MAUREAU BP 3011
F-69392 Lyon Cédex 03 (FR)

⑤④ **Compositions médicamenteuses à base de flavonoïdes et de saponines extraits de chrysanthellum, leur procédé de préparation et applications thérapeutiques.**

⑤⑦ Le principe actif de ces compositions médicamenteuses est essentiellement constitué de l'association de flavonoïdes et de saponines extraits du Chrysanthellum. Ces flavonoïdes sont au nombre de six choisis parmi les flavonoïdes - glucosyl 7 isookanine - glucosyl 7 eriodictyol - glucosyl 7 lutéoline - maréine - maritimeine - apigénine - acides caféique, chlorogénique et isochlorogénique.

Leur procédé de préparation consiste à soumettre une plante choisie parmi les Chrysanthellum dit americanum et sa variété procumbens et les Chrysanthellum indicum, sous-espèce afro-américanum à un traitement de broyage suivi d'une extraction par un solvant polaire puis à soumettre l'extrait obtenu à un maximum de deux lavages à l'aide d'un solvant non polaire.

Ils présentent une activité dans le traitement de la lithiase cystinique, des artérites et de l'insuffisance veineuse des membres inférieurs.

Description

COMPOSITIONS MEDICAMENTEUSES A BASE DE FLAVONOIDES ET DE SAPONINES EXTRAITS DE CHRYSANTHELLUM PROCEDE DE PREPARATION ET APPLICATIONS THERAPEUTIQUES

La présente invention concerne des compositions médicamenteuses à base de flavonoïdes et de saponines extraits de chrysanthellum ainsi qu'un procédé de préparation de ces extraits et l'application de ces compositions au traitement de la lithase cystinique, des insuffisances veineuses et des dyslipidémies.

Le chrysanthellum est une plante sub-tropicale appartenant à la famille des Hélianthées.

Cette plante se rencontre en Afrique Centrale et en Amérique du Sud et certaines de ses variétés : Americanum, Procumbens, Indicum et Afro-Americanum ont été utilisées sous forme d'extraits aqueux ou hydro-alcoolique, dans des buts médicamenteux.

C'est ainsi que le BSM-FR 979 et le FR-A-2 096 902 décrivent des médicaments obtenus à partir d'extraits aqueux ou hydro-alcooliques de Chrysanthellum Americanum Vatke ; ces médicaments sont destinés au traitement des troubles intestinaux associés ou non à des troubles hépatiques.

Il faut noter que les extraits de Chrysanthellum proposés se présentent sous la forme soit de solutés instables, soit d'une masse brunâtre compacte et hygroscopique, de composition incomplètement définie et comportant à côté de substances pharmacologiquement actives non isolées une forte proportion de ballast inerte.

Cette composition ainsi définie est bien évidemment un obstacle à l'emploi de cet extrait comme médicament dans des conditions de posologie précises et reproductibles.

FR-A-2 276 060 décrit, par ailleurs, une méthode de purification plus poussée d'extraits de Chrysanthellum qui permet d'obtenir des extraits pulvérulents de composition mieux définie. Cette méthode exige au moins vingt lavages dans l'acétate d'éthyle et conduit à l'obtention d'un extrait très concentré en composés polyphénoliques, mais peu ou mal défini quant à la nature des composés qui accompagnent ces polyphénols.

Les médicaments obtenus à partir de ces extraits sont donc essentiellement constitués de dérivés flavonoïdes, notamment O-déhydroxylés et ils présentent une activité sur la perméabilité capillaire.

Au cours de ses recherches, l'inventeur a réussi à déterminer de façon surprenante qu'il était possible d'associer aux dérivés flavonoïdes extraits du Chrysanthellum des saponines, en quantité définie, également extraites de cette plante pour obtenir des compositions médicamenteuses nouvelles présentant des propriétés pharmacologiques différentes de celles des médicaments à base d'extraits de Chrysanthellum connus jusqu'alors.

Les compositions médicamenteuses selon l'invention sont donc caractérisées en ce que leur principe actif est essentiellement constitué de l'association de flavonoïdes et de saponines extraits du Chrysanthellum.

Le rapport moyen entre les flavonoïdes et les saponines est de 2/1.

Selon un mode de réalisation préféré de l'invention, le principe actif des compositions médicamenteuses renferme, en outre, des dérivés de l'acide caféique et de l'acide chlorogénique.

L'invention concerne également un procédé de préparation de l'extrait de Chrysanthellum prévu pour constituer le principe actif des compositions médicamenteuses selon l'invention.

Ce procédé va maintenant être décrit.

Le matériel végétal utilisé au départ est choisi parmi les variétés suivantes de Chrysanthellum : Chrysanthellum americanum et sa variété procumbens et Chrysanthellum indicum, sous-espèce afro-americanum.

On soumet l'ensemble de la plante fraîche ou sèche, à un broyage mécanique jusqu'à obtention d'une poudre grossière.

On fait ensuite macérer cette poudre pendant 10 à 24 heures à température ambiante dans de l'eau ou dans un solvant polaire tel que l'alcool de titre supérieur à 30°, par exemple de l'alcool à 60° ou à 95°.

L'extraction du principe actif peut ensuite se faire à froid, par macération ou lixiviation dans un solvant quelconque : eau, alcool éthylique, alcool méthylique, alcool butylique.

La durée de l'extraction est, bien entendu, fonction du temps d'humectation du matériel végétal et de son épuisement progressif.

C'est ainsi que, par exemple, une extraction de 200 Kg de poudre de plante à température ambiante d'environ 20°C dans de l'alcool éthylique à 60°C a donné de bons résultats. L'extraction peut également se faire à chaud dans de l'éthanol ou dans un autre solvant alcoolique, mais le titre du solvant alcoolique est alors supérieur à 50°.

L'extraction comporte, de préférence, une étape de macération suivie d'une percolation itérative.

L'étape suivante de purification de l'extrait obtenu est tout à fait décisive pour l'obtention du produit selon l'invention. Il convient, en effet, que cette purification n'élimine pas les constituants doués d'activité que l'on désire maintenir dans le produit, et tout spécialement les flavonoïdes et les saponines.

L'inventeur a pu déterminer que l'on atteignait ce but en limitant la purification à un maximum de deux lavages à l'aide d'un solvant organique non polaire tel que le dichlorométhane.

Ces lavages sont effectués, de préférence, dans les conditions suivantes : dans des cuves ou bacs inox ou verre, à un volume d'extrait primaire est ajouté un volume d'un des solvants suivants dichlorométhane, acétate d'éthyle, isopropanol, tertibutylméthyléther ou toluène. Les deux phases sont soumises à une forte agitation pendant 1 à 2 heures. Après décantation, l'opération est renouvelée une fois, à température de + 10 à + 25°C.

Cette opération de lavage peut également être

réalisée en présence de sels de relargage tels que sulfate de sodium ou sulfate d'ammonium. A titre d'exemple la phase organique de l'extrait reçoit 10 pour cent (P/V) de sulfate de sodium sous forte agitation continue. Après 2 heures de contact à + 20°C, l'extrait est centrifugé ou décanté puis séché rapidement.

On obtient, en fin d'opération, une poudre adaptée aux transformations galéniques usuelles. Cette poudre renferme des flavonoïdes et des saponines dans le rapport moyen de 2/1.

Des examens effectués en résonance magnétique nucléaire, en spectrométrie de masse et en chromatographie liquide haute pression ont permis de déterminer que l'extrait obtenu présente la composition suivante : Saponines : chrysanthelline A et B dérivés de acide échinocystique et caulophyllogénine, Flavonoïdes :

- glucosyl 7 isookanine
- glucosyl 7 eriodictyol
- glucosyl 7 lutéoline
- mareïne
- maritiméine

Apigénine : apigénine

Acides caféiques, chlorogénique et isochlorogé.

On a procédé, par ailleurs, sur l'extrait ainsi obtenu à une série d'essais toxicologiques permettant de déterminer :

- la toxicité à six mois chez le rat,
- la toxicité de la reproduction/fertilité.

On a également effectué des tests de tératologie ainsi que des tests de mutagénicité.

Les résultats de ces essais et tests ont permis de déterminer que le traitement chronique de 4 lots de 40 rats pendant 26 semaines est sans effet toxique à la dose moyenne de 125 DTH, que les tests de tératologie chez le rat et chez le lapin n'ont signalé aucun effet embryotoxique et tératogène aux doses de 250 à 360 DTH et que l'étude de la reproduction chez le rat ne montre aucune action délétère.

Les tests pharmacologiques montrent que l'extrait selon l'invention possède des propriétés anti-oedémateuses, telles que celles données dans le test à la carragénine sur la patte du lapin, et des effets protecteurs vis-à-vis des thrombi veineux chez le lapin.

Enfin, de nombreux essais cliniques ont permis de déterminer que l'extrait de Chrysanthellum selon l'invention constituait le principe actif de compositions médicamenteuses présentant une activité thérapeutique tout à fait surprenante comparativement aux autres substances médicamenteuses classiques à base d'extraits de Chrysanthellum.

C'est ainsi que les substances médicamenteuses renfermant l'extrait de Chrysanthellum selon l'invention sont spécialement actives dans le traitement d'une lithiase très difficile à soigner, la lithiase cystinique.

Des essais, in vitro d'abord, sur le pouvoir anticristallisant de l'extrait de Chrysanthellum et des essais in vivo ensuite sur plusieurs malades cystiniques permettent de proposer l'extrait dans le traitement de cette maladie.

Des malades chroniques, sous traitement pendant dix-huit mois, n'ont eu aucune rechute et leur

cristallurie cystinique est restée normale.

Des évaluations effectuées en milieu hospitalier auprès de quatre-vingt hommes et cent trente six femmes ont permis d'étudier les propriétés des compositions médicamenteuses selon l'invention dans le traitement des artérites et de l'insuffisance veineuse des membres inférieurs.

Dans le cas de l'artérite, l'association naturelle des flavonoïdes et des saponines dans l'extrait selon l'invention intervient, non seulement, sur la microcirculation et la dynamique capillaire, mais aussi sur la rhéologie, l'agrégation plaquettaire et erythrocytaire et la réaction inflammatoire et oedémateuse, alors que l'extrait décrit dans FR-A-2 270 060 ne traitait que les vasculopathies induites par fragilité capillaire.

Dans le cas de l'insuffisance veineuse, cette même association intervient, outre sur la dynamique capillaire, sur la continence valvulaire.

L'extrait de Chrysanthellum selon l'invention trouve également une application spécialement intéressante dans le traitement des dislipidémies et spécialement de l'hypercholestérolémie et de l'hyperlipidémie. Une population, dûment définie et sous surveillance biologique et diététique, voit son taux moyen de cholestérol abaissé de 17 % et son taux moyen de triglycérides de 56 % après un à deux mois de traitement à raison de 300 mg d'extrait par jour.

Les compositions médicamenteuses selon l'invention associées à un support pharmaceutiquement acceptable peuvent être administrées par voie locale ou générale. Par voie générale il faut entendre essentiellement la voie orale (comprimés, dragées, gélules, capsules, poudres, sirops, solutés).

Revendications

1- Compositions médicamenteuses, caractérisées en ce que leur principe actif est essentiellement constitué de l'association de flavonoïdes et de saponines extraits du Chrysanthellum.

2- Compositions selon la revendication 1, caractérisées en ce que le rapport moyen entre les flavonoïdes et les saponines est de 2/1.

3- Compositions selon la revendication 1 et la revendication 2, caractérisées en ce que le principe actif des compositions médicamenteuses renferme, en outre, des dérivés de l'acide caféique et de l'acide chlorogénique.

4- Compositions selon l'une des revendications 1 à 3, caractérisées en ce que les flavonoïdes sont au moins au nombre de six et choisis parmi les flavonoïdes - glucosyl 7 isookanine - glucosyl 7 eriodictyol - glucosyl 7 lutéoline - mareïne - maritiméine - apigénine - acides caféique, chlorogénique et isochlorogénique.

5- Compositions selon l'une des revendications 1 à 3, caractérisées en ce que les saponines sont au moins au nombre de deux et

choisis parmi les chrysantelline A et B dérivé de acide échinocystique et caulophyllogénine.

6- Compositions selon la revendication 3, caractérisées en ce que les dérivés de l'acide caféique et de l'acide chlorogénique et isochlorogénique sont conservés dans l'extrait.

7- Procédé pour l'obtention de l'extrait constituant le principe actif de la composition médicamenteuse selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, caractérisé en ce qu'il consiste à soumettre une plante choisie parmi les *Chrysanthellum* dit *americanum* et sa variété *procumbens* et les *Chrysanthellum indicum*, sous-espèce *afro-americanum* à un traitement de broyage suivi d'une extraction par un solvant polaire puis à soumettre l'extrait obtenu à un maximum de deux lavages à l'aide d'un solvant non polaire.

8-Procédé selon la revendication 7, caractérisé en ce que l'étape d'extraction se fait par macération ou lixiviation dans un alcool de titre supérieur à 30°, ou dans l'eau, à froid.

9- Procédé selon la revendication 7, caractérisé en ce que l'étape d'extraction se fait par macération suivie d'une percolation itérative dans un alcool de titre supérieur à 50°, à chaud.

10- Application des compositions médicamenteuses selon l'une quelconque des revendications 1 à 6 au traitement de la lithiase cystinique.

11- Application des compositions médicamenteuses selon l'une quelconque des revendications 1 à 6 au traitement des artérites et de l'insuffisance veineuse des membres inférieurs.

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

4



EP 88 42 0384

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS			
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	Revendication concernée	CLASSEMENT DE LA DEMANDE (Int. Cl.4)
A,D	FR-A-2 096 902 (P. COUDERC) * Revendications 1,4 * ---	1,7,10,11	A 61 K 35/78
A,D	FR-A-2 276 060 (SOCIETE CORTIAL) * Revendications 1,2,3 * ---	1	
A,D	FR-M- 979 (P. COUDERC) * Résumé * ---	1	
A	DIALOP 80091583 MEDLINE; M. BECCHI et al.: "Structure of a new saponin: chrysantellin A from Chrysanthellum procumbens Rich", & EUR. J. BIOCHEM, 1979, 102(1), 11-20 * Résumé * -----	1	
			DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int. Cl.4)
			A 61 K
Le présent rapport a été établi pour toutes les revendications			
Lien de la recherche LA HAYE		Date d'achèvement de la recherche 24-02-1989	Examineur PEETERS J.C.
CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet antérieur, mais publié à la date de dépôt ou après cette date D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant			

THIS PAGE BLANK (USPTO)